

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift
10 DE 196 03 996 A 1

51 Int. Cl.⁶:
G 01 N 1/04
G 01 N 1/28
G 01 N 33/48
B 07 C 5/38
B 23 K 26/00
C 12 Q 1/00
C 12 N 13/00
C 12 M 1/42

21 Aktenzeichen: 196 03 996.7
22 Anmeldetag: 5. 2. 98
43 Offenlegungstag: 14. 8. 97

DE 196 03 996 A 1

71 Anmelder:
Bayer AG, 51373 Leverkusen, DE; Palm GmbH, 82515
Wolftratshausen, DE

74 Vertreter:
Drope, R., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 50767
Köln

72 Erfinder:
Dießel, Edgar, Dr., 50679 Köln, DE; Stebani, Jürgen,
Dr., 47800 Krefeld, DE; Reihs, Karsten, Dr., 50679
Köln, DE; Schütze, Karin, Dr., 82515 Wolftratshausen,
DE

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht zu ziehende Druckschriften:

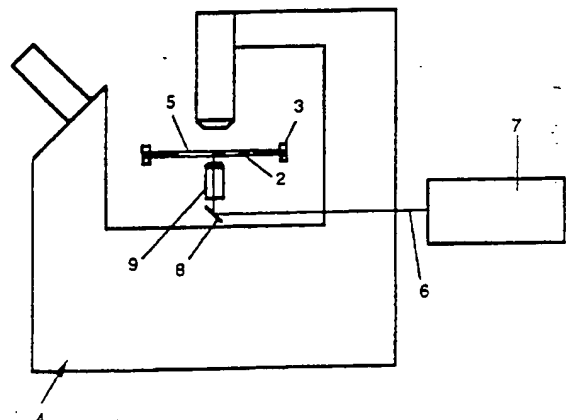
DE 40 17 804 C2
DE 34 26 473 C1
DE 28 19 711 C2
DE 26 49 912 C2

DE 43 00 698 A1
DE 43 00 698 A1
DE 42 28 694 A1
DE 41 38 468 A1
DE 35 09 273 A1
DE 28 50 166 A1
DE 28 45 324 A1
DE 25 05 774 A1
GB 22 27 601 A
US 48 29 687
US 48 24 915
US 42 43 887
JP 07-0 31 459 A

PONELIES, N., et.al.: Laser micromanipulators for
biotechnology and genome research. In: Journal of
Biotechnology 35, 1994, S.109-120;
JP Patents Abstracts of Japan: 6-225750
A., C-1273, Nov. 15, 1994, Vol. 18, No. 597;
5- 76342 A., C-1088, July 23, 1993, Vol. 17, No. 394;
4-356183 A., C-1053, April 28, 1993, Vol. 17, No. 216;
4-299976 A., C-1033, March 9, 1993, Vol. 17, No. 113;
3- 15380 A., C- 819, March 29, 1991, Vol. 15, No. 132;
2- 76574 A., C- 726, June 8, 1990, Vol. 14, No. 285;
62-259578 A., C- 492, April 30, 1988, Vol. 12, No. 143;

54 Sortiervorfahren für planar ausgebrachte biologische Objekte mit Laserstrahlen

57 Bei dem Verfahren zum Separieren und Sortieren von
biologischen Objekten auf einer planaren Trägerfolie 2 wird
ein Objektfeld 1 der Trägerfolie 2, auf dem sich das selektive
biologische Objekt 1, 10 befindet, mit einem Laserstrahl 8
ausgeschnitten und durch einen Laser-induzierten Trans-
portprozeß auf ein unmittelbar oberhalb oder unterhalb der
Trägerfolie 2 angeordnetes Auffängersubstrat 5 übertragen.
Zum Ausschneiden wird der Laserstrahl 8 vorteilhaft auf
einen geschlossenen, daß Objektfeld 12 einschließenden
Kurve um das biologische Objekt 10 herumgeführt. Mit
diesem Verfahren können aus einer sehr großen Zahl von
Objekten einzelne ausgewählte Objekte räumlich abgetrennt
und ausgesondert werden. Das Verfahren kann auch zur
Separation von spezifischen Zellen aus Gewebeschnitten
eingesetzt werden.



DE 196 03 996 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Sortieren und Separieren für einzelne biologische Objekte. Die Objekte sind hierbei auf einem festen planaren Träger nebeneinander angeordnet. Mit diesem Verfahren können aus einer sehr großen Zahl von Objekten (z. B. 10^5 – 10^9) einzelne Objekte räumlich abgetrennt und ausgesondert werden. Die Abtrennung von gehäuft Zellen als Gesamtheit ist ebenso möglich. Ebenso kann das Verfahren zur Separation von spezifischen Zellen aus Gewebeschnitten eingesetzt werden. Voraussetzung für dieses Sortierverfahren ist die vorherige Erkennung und Selektion der betreffenden Objekte aufgrund spezifischer analytischer Eigenschaften (z. B. durch Fluoreszenzspektroskopie oder durch radioaktive Markierung). Unter "biologischen Objekten" werden im Rahmen der vorliegenden Anmeldung vor allem (lebende) biologische Zellen verstanden.

Zur Separation einzelner biologischer Objekte lassen sich Objekte mit optischen Methoden, wie der optischen Pinzette (Optical Tweezer) in einer wäßrigen Lösung bewegen (K. Schütze, A. Clement-Sengewald, Nature, 667 (Vol. 368) 1994). Aufgrund der geringen Kraftübertragung ist diese Methode auf Objekte beschränkt, die sich frei in der Lösung bewegen können. Da sich die sortierten, wie die unsortierten Objekte in der gleichen Lösung befinden, ist eine getrennte Kultivierung nur mit zusätzlichem Aufwand erzielbar. Für eine getrennte Kultivierung müssen diese Zellen mit einer anderen Methode, wie z. B. mit Nadeln, abgetrennt werden. Mit Mikromanipulatoren bewegte Nadeln, an denen die Zellen adherieren, werden auch als alleinige Methode eingesetzt. Hierbei werden die Zellen direkt berührt und könnten somit mechanisch belastet werden. Beide Methoden sind verhältnismäßig zeitintensiv, so daß sie nicht zur Bearbeitung einer Vielzahl von Objekten geeignet sind.

Zur Separierung einzelner Zellen aus einer großen Zahl ($> 10^9$), in einer Flüssigkeit dispergierter, biologischer Objekte geeignete Trenn- bzw. Sortierapparate sind kommerziell erhältlich. Während bei der fluoreszenzaktivierten Zellsortierung (FACS = Fluorescence activated Cell Sorter) elektrostatische Prinzipien zur räumlichen Separation zum Einsatz kommen, arbeitet der magnetisch aktivierte Zellsortierer (MACS = Magnetic activated Cell Sorter) mit magnetischen Kräften.

Hierbei liegen die Zellen jedoch nicht auf einem planaren Träger nebeneinander. Überdies haben beide Methoden den Nachteil, daß sich einzelne Objekte nur eingeschränkt (FACS) oder überhaupt nicht getrennt voneinander absondern lassen (MACS).

Die vorgestellten Methoden können keine Zellen aus einem Zellverband wie etwa einem Gewebe lösen.

Ferner sind unter dem Namen "Ablative Photodecomposition" Verfahren bekannt, bei denen mit gepulsten UV-Lasern, insbesondere mit Excimer-Lasern ein gezielter Materialabtrag bei Polymeren erfolgt. Diese Verfahren können im weitesten Sinne als Ätzverfahren angesehen werden. Ein ähnliches Verfahren, bei dem jedoch ein kontinuierlich betriebener UV-Laser verwendet wird, wird in dem US-Patent 5 211 805 beschrieben. Dieses Verfahren soll sich zur industriellen Bearbeitung von technischen Polymeren und zur biomedizinischen Behandlung von biologischem Gewebe eignen. Hiermit ist ein Sortierprinzip verwandt, das mit Laserstrahlen die auf einem Träger befindlichen unerwünschten biologischen Objekte mit hohen Strahlungsdosen

zerstört, während die selektierten (erwünschten) Objekte zurück bleiben (US 4 624 915). Dieser Prozeß ist verhältnismäßig aufwendig, um einzelne Objekte aus großen Populationen zu selektieren.

Die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe besteht in der räumlichen Separation einzelner biologischer Objekte, die nebeneinander auf einem planaren Träger ausgebracht sind. Hierbei soll der Vorgang des Absonderns möglichst kurz (< 10 s) sein. Außerdem soll der Prozeß sehr zuverlässig und damit in einfacher Weise automatisierbar sein. Gleichzeitig soll die Überlebensfähigkeit der biologischen Objekte in der Regel gewahrt bleiben; d. h. die biologischen Objekte sollen durch den Abtrennprozeß nicht geschädigt bzw. beeinträchtigt werden.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß ein Objektfeld der Trägerfolie, auf dem sich das selektierte biologische Objekt befindet, mit einem Laserstrahl ausgeschnitten wird und durch einen Laser-induzierten Transportprozeß auf ein unmittelbar oberhalb oder unterhalb der Trägerfolie angeordnetes Auffängersubstrat übertragen wird. Die erfindungsgemäße Lösung besteht also darin, daß die biologischen Objekte in einem kleinen, vorzugsweise kreisförmigen Umfeld mitsamt dem Träger von einem Laserstrahl ausgeschnitten werden und anschließend aus der Trägerfolie heraus auf einen in der Nähe angebrachten Auffänger geschleudert werden. Es wurde beobachtet, daß die herausgetrennten Objektfelder dabei stets in Richtung des Laserstrahls beschleunigt werden. Eine physikalische Erklärung für diesen Laser-induzierten Transportprozeß liegt möglicherweise in dem photokinetischen Impuls, der von dem Laserstrahl auf das ausgeschnittene Objektfeld übertragen wird und damit für die Beschleunigung verantwortlich ist. Die räumliche Separation der biologischen Objekte beruht also bei diesem Prozeß auf dem Ausschneiden der gewünschten Objektfelder mit den vorher selektierten Objekten und ihrem Abtransport zu einem in der Nähe befindlichen Auffängersubstrat.

Das Ausschneiden des Objektfeldes kann vorteilhaft in der Weise erfolgen, daß der Laserstrahl durch eine Relativbewegung von Laserstrahl und Trägerfolie auf einer geschlossenen, das Objektfeld einschließenden Kurve um das biologische Objekt herumgeführt wird. Alternativ kann aber die Abtrennung eines Objektfeldes in Analogie zu einem Stanzprozeß auch so durchgeführt werden, daß der das Objektfeld einschließende Schnittbereich durch eine mit dem Laserstrahl beleuchtete, auf die Trägerfolie abgebildete Schlitzmaske simultan belichtet wird.

Wie schon erwähnt, soll das Auffängersubstrat in unmittelbarer Nähe der Trägerfolie angeordnet werden, so daß die Transportwege bei dem Separationsprozeß kurz sind. Gute Ergebnisse wurden erzielt, wenn die Entfernung 0,5 bis 10 mm, vorzugsweise 1 bis 3 mm betrug.

Der Durchmesser des Objektfeldes mit dem selektierten Objekt kann auf Grund des außerordentlich präzisen Schnittvorgangs sehr klein, d. h. in einem Bereich von 10 µm bis 20 µm, gewählt werden.

Zum Ausschneiden wird vorzugsweise ein UV-Laser verwendet, wobei der Laserstrahl fokussiert auf die Trägerfolie abgebildet wird.

Die Trägerfolie besteht dabei aus einer UV-absorbierenden Polymerfolie mit einer Dicke zwischen 5 µm und 15 µm, deren Absorptionsverhalten an die Wellenlänge des UV-Lasers angepaßt ist, also zumindest in der Um-

gebung der Laserwellenlänge ein Absorptionsmaximum besitzt. Als besonders geeignet haben sich Polymerfolien erwiesen, die mindestens 5 Gew.-% eines aromatischen oder teilaromatischen Polykondensats enthalten. Die geometrische Form des Auffängersubstrats ist relativ unkritisch. Geeignet ist z. B. eine relativ dicke Folie oder Platte, die im Abstand von 0,5 bis 10 mm, oberhalb oder unterhalb von der Trägerfolie parallel dazu angebracht wird. Das Auffängersubstrat kann aber auch als topfförmiger Behälter ausgebildet sein. Insbesondere wird eine Mikrotiterplatte mit 90 bis 500 Vertiefungen (Wells) zur Aufnahme der Proben empfohlen.

Gemäß einer speziellen Ausführungsform ist die Platte oder Folie mit einer adhäsiven Schicht versehen. Durch eine solche Klebeschicht können die abgeschleuderten Objektfelder auf dem Auffängersubstrat fixiert werden.

Zur Erkennung und Selektion der gewünschten biologischen Objekte auf der Trägerfolie wird vorzugsweise die Methode der Fluoreszenzspektroskopie eingesetzt.

Alternativ können die biologischen Objekte mit Hilfe bekannter histochemischer Farbreaktionen oder morphologischer visuell wahrnehmbarer Veränderungen erkannt und anschließend selektiert werden.

Gemäß einer Weiterentwicklung werden die biologischen Objekte mit einem flüssigen, für die Laserstrahlung durchsichtigen Nähr- oder Puffermedium beschichtet. Der Schnittvorgang und der Ablöseprozeß des selektierten Objektfeldes werden dadurch nicht einträchtigt.

Das erfindungsgemäße Separierverfahren wird vorteilhaft in einem abgeschlossenen System durchgeführt. Zu diesem Zweck wird sowohl die Trägerfolie mit den zu sortierenden Objekten, als auch das Auffängersubstrat in einem geschlossenen Behälter untergebracht, der ein UV-transparentes Fenster für den Laserstrahl besitzt.

Der Vorteil des Laser-induzierten Separationsprozesses von Zellen besteht in der gezielten und gleichzeitig schnellen Manipulation von einzelnen Zellen im Vergleich zum Stand der Technik. Aufgrund des einfachen Prinzips ist der Prozeß sehr robust und einfach zu handhaben und eignet sich daher zur Computer-gestützten automatischen Separation einer Vielzahl von biologischen Objekten. Ein unter sicherheitstechnischen Aspekten wichtiger Vorteil liegt ferner darin, daß der Separationsprozeß in einem hermetisch abgeschlossenen System durchgeführt werden kann, so daß die Umgebung vor pathogenen Zellen geschützt werden kann. Außerdem werden die Zellen von Verunreinigungen aus der Umgebung geschützt.

Das Verfahren eignet sich prinzipiell zum Einsatz in Teilgebieten der Biotechnologie, wo spezifische Zelltypen angereichert werden sollen. Beispielsweise können mit dem Green fluorescent Protein (GFP) als Reporter gen transfizierte Zellen identifiziert werden. Marshall et al. (Neuron, Vol. 14, 211—215 (1995)) benutzen z. B. die GFP-Methode, um die Expression von Ionenkanälen abzuschätzen. Gemäß einer weiteren Anwendung können für neurologische Experimente aus Gehirngewebe schnitten z. B. Gliazellen separiert werden. Hierzu werden fluoreszenzmarkierte Antikörper benutzt, um diese Zellen zu identifizieren. Zur Diagnose könnten aus Gewebeschnitten Tumorzellen, die z. B. durch morphologische Veränderungen auffallen, isoliert werden. Hierzu wird der Gewebeschnitt auf die Trägerfolie gelegt. Die herauspräparierende Zelle wird durch einen Schnitt durch das Gewebe und die Substratfolie separiert, so

daß Zelle plus Substratmaterial gemeinsam auf eine Unterlage transferiert werden. Diese Zellen werden anschließend histologisch analysiert. Darüber hinaus können Bakterien mit spezifischen Eigenschaften wie z. B. Zitronensäureproduzenten auf ihre Leistungsfähigkeit hin durch geeignete pH-sensitive Farbumschläge eines geeigneten Indikators erkannt und anschließend aussortiert werden.

Ausführungsbeispiel

Im folgenden wird die Erfindung an Hand von Zeichnungen und Ausführungsbeispielen näher erläutert.

Es zeigen:

Fig. 1 schematisch eine Trägerfolie mit adherierten Bakterien

Fig. 2 den prinzipiellen Aufbau einer Apparatur zur Realisierung des erfindungsgemäßen Verfahrens

Fig. 3 und 4 das zugrundeliegende Sortierprinzip

Fig. 1 zeigt beispielsweise eine Bakterienpopulation 1, die planar auf einer 5 µm starken Polyarylatfolie 2 (Trägerfolie) ausgebracht ist. Zum Sortiervorgang wird die Trägerfolie 2 in einen Schiebetisch 3 eingelegt und mechanisch fixiert. Dieser Tisch befindet sich gem. Fig. 2 als Objektisch in einem inversen Mikroskop 4 und kann z. B. mittels eines Computer-gesteuerten Schrittmotors in x,y-Richtung (Horizontalebene) positioniert werden. Im Schiebetisch 3 ist ferner gegenüber der Trägerfolie 2 im Abstand von 1,8 mm ein plattenförmiges Auffängersubstrat 5 gehalten. Bei einer Bewegung des Schiebetisches 3 werden also gleichzeitig die Trägerfolie 2 und das Auffängersubstrat 5 senkrecht zum Strahlengang (z-Richtung) im Mikroskop verschoben. Der Schiebetisch 3 mit der Trägerfolie 2 und den darauf befindlichen biologischen Objekten 1, sowie das Auffängersubstrat 5 sind von einem geschlossenen Gehäuse mit einem UV-durchlässigen Fenster für den Laserstrahl umgeben (nicht dargestellt), so daß das Verfahren in einem hermetisch abgeschlossenen System durchgeführt werden kann.

Als Trägerfolie für die biologischen Objekte wird eine 5 µm bis 15 µm dicke, UV-absorbierende Polymerfolie aus einem Polymer verwendet, das mindestens 5 Gew.-% eines aromatischen oder teilaromatischen Polykondensates, wie z. B. Polycarbonate, Polyurethane, Polyarylate, Copolyester, Polyestercarbonate oder Blends aus diesen Polykondensaten und anderen Thermoplasten enthält.

Zur räumlichen Trennung einer einzelnen Bakterie aus der ausgebrachten Population wird ein UV-Laserstrahl 6 der Wellenlänge 337 nm eines gepulsten N₂-Lasers 7 verwendet. Der Laser 7 liefert bei einer maximalen Pulsfrequenz von 20 Hz ca. 300 µJ Strahlenergie. Geeignet sind auch Excimerlaser mit einer Wellenlänge von 193, 248, oder 308 nm oder ein frequenzvervierfachter Nd:YAG-Laser mit einer Wellenlänge von 266 nm oder ein frequenzverdoppelter Ar-Ionenlaser mit Wellenlängen von 244 nm oder 257 nm. Der Laserstrahl 6 wird über einen dielektrischen Strahlteiler 8 und ein verkleinertes Mikroskopobjektiv 9 (Verkleinerung 63 x, Öffnungsverhältnis NA = 0.9) auf die Trägerfolie 2 punktförmig abgebildet. Dieser Punkt hat einen Durchmesser von ca. 5 µm.

Eine kreisförmige bzw. geschlossene Schnittlinie mit einem Durchmesser von ca. 10 µm wird um das selektierte Bakterium durch eine entsprechende Bewegung des Schiebetisches 3 in der Horizontalebene erzeugt. Die durch die Schnittlinie definierte Fläche stellt in die-

sem Fall die Objektfläche dar. Der Laserstrahl bleibt während des nachfolgend beschriebenen Schneidprozesses ortsfest.

Im Experiment betrug die relative Bahngeschwindigkeit des Laserstrahls zum Ausschneiden einer geschlossenen Fläche 5 µm/s. Dabei entstand eine scharfkantige, eng begrenzte Schnittlinie, wobei gleichzeitig mit der Rückkehr des Laserstrahls zum Startpunkt der Schnittlinie ein Abriß der ausgeschnittenen Fläche erfolgte. Diese Fläche wurde nun durch einen Laser-induzierten Transportprozeß, dessen physikalische Wirkungsweise im Einzelnen noch nicht geklärt ist, von der Trägerfolie 2 weg auf das darüber befindliche, mit einer adhäsiven Klebeschicht versehene Auffängersubstrat 5 geschleudert und blieb dort haften. Eine andere Möglichkeit besteht darin, als Auffängersubstrat eine handelsübliche Mikrotiterplatte mit z. B. 96 Wells zu verwenden. Unter "Wells" werden in der pharmazeutischen Forschung die in der Mikrotiterplatte befindlichen Aussparungen bzw. kreisrunden Vertiefungen zur Probenaufnahme mit einem Durchmesser von ca. 4 mm und einer Tiefe von ca. 6 mm verstanden.

Der Sortierprozeß soll noch einmal an Hand der Fig. 3 und 4 veranschaulicht werden. Fig. 3 zeigt ein räumlich zu separierendes Bakterium 10 auf der Trägerfolie 2. Auf Grund der kreisförmigen Bewegung des Schiebetischs 3 ist durch den ortsfesten Laserstrahl 6 beim Schneidprozeß bereits eine Schnittlinie 11 von etwa 5–7 µm Breite in die Folie 2 geschrieben worden. In diesem Bereich ist das Folienmaterial komplett abgetragen worden. Unmittelbar nachdem die Schnittlinie 11 zu einem geschlossenen Kreis vervollständigt worden ist, wird das abgetrennte Folienstück (Objektfeld) 12 mit dem darauf befindlichen Bakterium 10 in Richtung des Laserstrahls beschleunigt und wie in Fig. 4 dargestellt, auf das Klebeband 5 (Auffängersubstrat) geschleudert. In der Trägerfolie 2 verbleibt ein kreisrundes Loch 13.

Anstelle des Schiebetischs kann auch mit einem ruhenden Objektisch gearbeitet und der Laserstrahl mit Hilfe eines in die Laseroptik eingebauten Drehspiegels auf einem Kreis um das selektierte Bakterium herumgeführt werden.

Voraussetzung für die Laser-Separation ist die vorherige Erkennung und Selektion der aus der Trägerfolie zu entfernenden Objektfelder. Eine in der pharmakologischen Forschung häufig angewandte Methode der Erkennung und Selektion von bestimmten Zellstrukturen ist die Fluoreszenzspektroskopie. Zu diesem Zweck wird ein kommerziell erhältliches Fluoreszenz-Mikroskop eingesetzt. Grundlage ist dabei, daß die für die Selektion vorgesehenen Zellen bzw. Bakterien ein signifikantes Fluoreszenzsignal erzeugen, das als Unterscheidungskriterium herangezogen wird. Mit Hilfe eines mit einem Suchalgorithmus ausgestatteten Scan-Programms kann dann der Schiebetisch 3 so gesteuert werden, daß automatisch nacheinander die Bereiche mit selektierten Bakterien als Objektfelder zentral im Gesichtsfeld des Fluoreszenzmikroskops positioniert und anschließend ausgeschnitten werden.

Zur Erkennung von biologischen Objekten in Gewebeschnitten können auch die bekannten histologischen Farbreaktionen oder im Mikroskop wahrnehmbare morphologische Veränderungen herangezogen werden.

Die Trägerfolie 2 kann auch mit einer für die Laserstrahlung durchlässigen Nähr- oder Pufferlösung, z. B. einer PBS-Pufferlösung, beschichtet werden, ohne den Separierprozeß zu beeinträchtigen.

1. Verfahren zum Separieren und Sortieren von biologischen Objekten auf einer planaren Trägerfolie (2), dadurch gekennzeichnet, daß ein Objektfeld (12) der Trägerfolie (2), auf dem sich das selektierte biologische Objekt (10) befindet, mit einem Laserstrahl (6) ausgeschnitten wird und durch einen Laser-induzierten Transportprozeß auf ein unmittelbar oberhalb oder unterhalb der Trägerfolie (2) angeordnetes Auffängersubstrat (5) übertragen wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Laserstrahl (6) auf einer geschlossenen, das Objektfeld (12) einschließenden Kurve um das biologische Objekt (10) herumgeführt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der das Objektfeld (12) einschließende Schnittbereich durch eine mit dem Laserstrahl (6) beleuchtete, auf die Trägerfolie (2) abgebildete Schlitzmaske simultan belichtet wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Objektfeld (12) mit dem darauf befindlichen biologischen Objekt (10) nach dem Ausschneiden über eine Distanz von 0,5 bis 10 mm, vorzugsweise 1 bis 3 mm zu dem angeordneten Auffängersubstrat (5) transportiert wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß ein Objektfeld (12) mit einem Durchmesser von 10 µm bis 50 µm ausgeschnitten wird.
6. Verfahren nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß zum Ausschneiden des Objektfeldes (12) ein UV-Laser (7) verwendet wird.
7. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Trägerfolie (2) für die biologischen Objekte (1, 10) eine UV-Licht absorbierende Polymerfolie mit einer Dicke von 5 µm bis 15 µm verwendet wird.
8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer mindestens 5 Gew.-% eines aromatischen oder teil aromatischen Polykondensates enthält.
9. Verfahren nach Anspruch 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Auffängersubstrat (5) eine Folie mit einer adhäsiven Oberfläche eingesetzt wird.
10. Verfahren nach Anspruch 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß als Auffängersubstrat (5) eine Mikrotiterplatte mit 90 bis 500 Vertiefungen (Wells) zur Aufnahme der Proben verwendet wird.
11. Verfahren nach Anspruch 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die biologischen Objekte (1, 10) mit Hilfe der Fluoreszenz-Spektroskopie erkannt und anschließend selektiert werden.
12. Verfahren nach Anspruch 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß biologische Objekte (1, 10) in Gewebeschnitten mit Hilfe histochemischer Farbreaktionen oder morphologischer visuell wahrnehmbarer Veränderungen erkannt und anschließend selektiert werden.
13. Verfahren nach Anspruch 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Trägerfolie (2) mit den darauf befindlichen biologischen Objekten mit einem flüssigen, für die Laserstrahlung durchlässigen Nähr- oder Puffermedium beschichtet wird.
14. Verfahren nach Anspruch 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß sowohl die Trägerfolie (2) mit

den zu sortierenden Objekten (1, 10) als auch das Auftängersubstrat (5) in einem geschlossenen Behälter untergebracht sind, der ein UV-transparentes Fenster für den Laserstrahl besitzt.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -

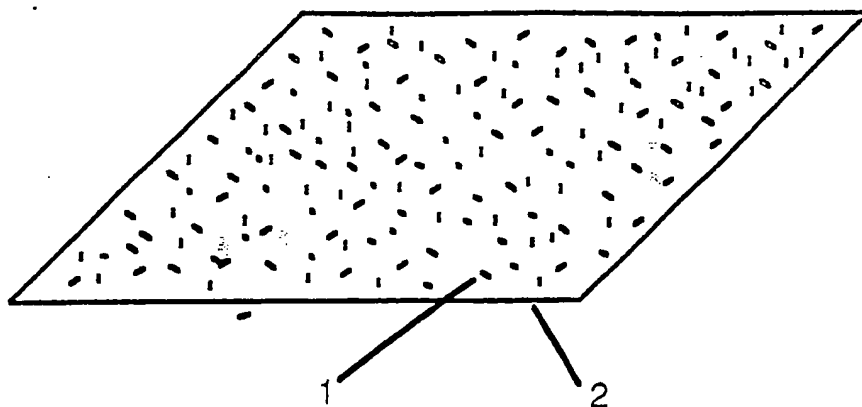


Fig. 1

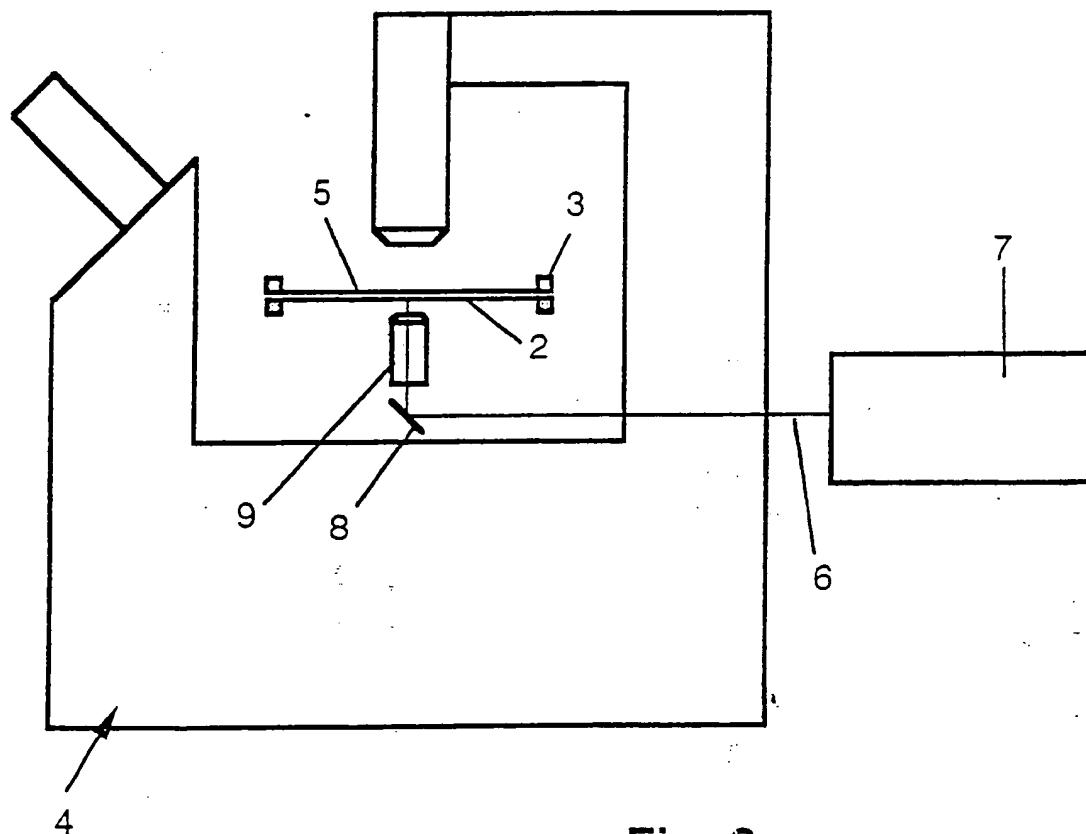


Fig. 2

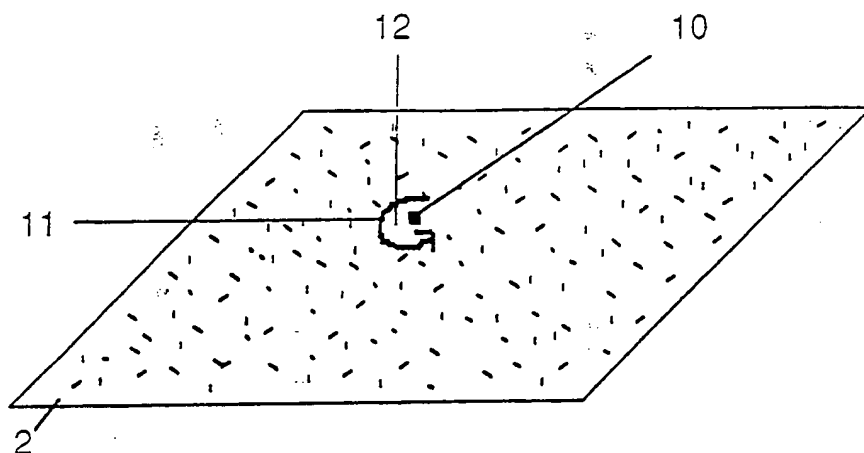


Fig. 3

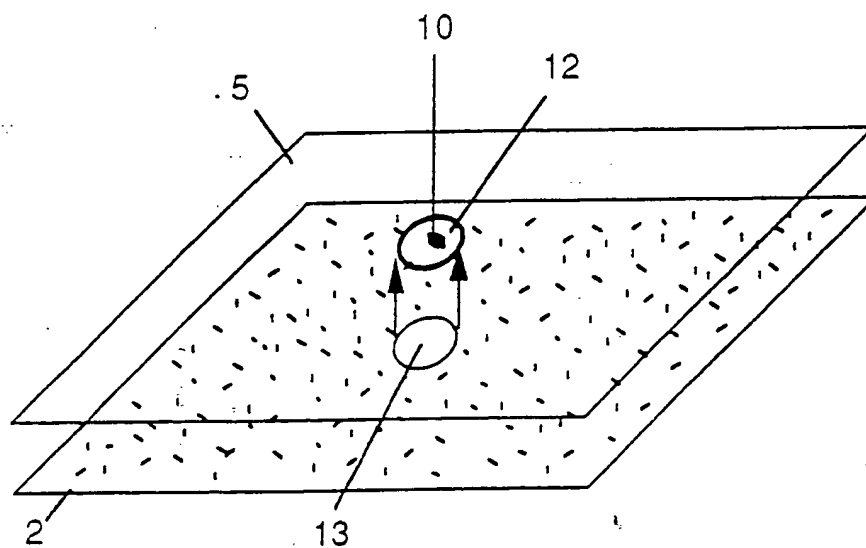


Fig. 4